

11731386

200 tests

Domaine d'utilisation

Test immunologique pour la détermination quantitative *in vitro* de la triiodothyronine libre (T3L) dans le sérum et le plasma.

Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages sur les analyseurs Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (Module Elecsys) de Roche.

Tous les appareils ne sont pas disponibles dans tous les pays

Généralités

La triiodothyronine (T3) est une hormone thyroïdienne sérique qui participe à la régulation du métabolisme. Le dosage de cette hormone est intéressant pour différencier les états d'euthyroïdie, hyperthyroïdie et hypothyroïdie. La quasi totalité de cette triiodothyronine est fixée à des protéines de transport : TBG, Thyroid Binding Pre-Albumin (TBPA) et albumine. L'hormone non liée ou T3 libre est la fraction physiologiquement active.

Le dosage de la T3 libre présente l'avantage de ne pas être influencé par les variations de concentration des protéines de transport ou de leur capacité de liaison, ce qui diminue l'intérêt du dosage T-Uptake ou de la TBG.^{1,2,3}

Le procédé du test et l'utilisation d'un anticorps marqué réduisent le risque d'interférence lié au sérum, comme on peut le constater avec les techniques de dosages utilisant un antigène marqué analogue.^{4,7}

Il existe plusieurs méthodes de détermination du taux des formes libres des hormones thyroïdiennes. Le dosage direct de la T3 ou T4 libre par dialyse à l'équilibre ou par ultrafiltration sont les méthodes de référence pour la standardisation des tests immunologiques généralement pratiqués en routine.⁴

La mise en évidence de la triiodothyronine libre par le test FT3 Elecsys est réalisée à l'aide d'un anticorps anti-T3 spécifique marqué au ruthénium**.

**Ru(bpy)₃²⁺ : Tris(2,2'-bipyridyl)ruthénium(II)

Principe*

Principe par compétition. Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.

- 1^{ère} incubation : Une prise d'essai de 30 µl (2010) ou de 20 µl (1010) d'échantillon est mise en présence d'un excès d'anticorps anti-T3 marqué au ruthénium**.
- 2^e incubation : La T3 marquée à la biotine et les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées. L'excès d'anticorps marqués au ruthénium capte la T3 marquée à la biotine, le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine (fraction liée).
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell.
- Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

Réactifs – Contenu du coffret et concentrations*

Coffret FT3 Elecsys, Réf. 11731386, 200 tests

- M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 12 ml (bouchon transparent) :
Microparticules tapissées de streptavidine : 0,72 mg/ml, capacité de liaison : 470 ng de biotine/mg de microparticules; conservateur.
- R1 Anticorps anti-T3~Ru(bpy)₃²⁺, 1 flacon contenant 14 ml (bouchon gris) :
anticorps polyclonaux de mouton anti-T3 marqués au ruthénium 75 ng/ml; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,4; conservateur.
- R2 T3~biotine, 1 flacon contenant 14 ml (bouchon noir) :
T3 biotinylée 5 ng/ml; tampon phosphate 100 mmol/l, pH 7,4; conservateur.

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic *in vitro*.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.

L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs*

Les réactifs contenus dans le test sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément.

 Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons de réactifs et sont lues automatiquement par l'appareil.

Conservation et stabilité*

Ranger le coffret FT3 Elecsys entre 2 et 8°C en position verticale de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.

Stabilité :

Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée

Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines

Sur E170 : cinq semaines

Sur Elecsys 2010 : huit semaines

Sur Elecsys 1010 : sept semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil à 20–25°C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

Prélèvement et préparation des échantillons*

Seuls les échantillons suivants ont été testés :

Sérum non dilué : sang total prélevé sur tubes standard ou contenant un gel séparateur.

Plasma non dilué : sang total recueilli sur héparinate d'ammonium, de lithium, de sodium, EDTA tripotassique, citrate de sodium, fluorure de sodium ou oxalate de potassium (critère d'acceptabilité : recouvrement 90–110% % de la valeur du sérum ou pente 0,9–1,1 + coefficient de corrélation >0,95 + ordonnée à l'origine <± 2 x limite de détection analytique).

Conservation : sept jours entre 2 et 8°C, un mois à -20°C.⁸ Ne congeler qu'une fois.

Stabilité du sérum recueilli sur tubes contenant un gel séparateur: 48 heures entre 2 et 8°C

(selon les indications données par le fabricant des tubes).¹⁰

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.

Ne pas utiliser d'échantillons ou de solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.

S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles se situe à 20–25°C.

En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les deux heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs. 

FT3 Elecsys - Réactifs et matériel nécessaires*

Contenu du coffret

Réf. 11731386, Coffret FT3 Elecsys pour 200 tests:

- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-T3~Ru(bpy)₃²⁺
- R2 T3~biotine

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires (non fournis)

- Réf. 11731521, FT3 CalSet Elecsys pour 4 x 1 ml
- Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecsys :
- PreciControl Universal 1 : pour 2 x 3 ml et PreciControl Universal 2 : pour 2 x 3 ml

- Equipement habituel de laboratoire
- Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170

Matériel auxiliaire pour Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :

- Réf. 11662988, ProCell Elecsys, 6 x 380 ml, tampon système
- Réf. 11662970, CleanCell Elecsys, 6 x 380 ml, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 11930346, SysWash Elecsys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage
- Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean
- Réf. 11706829, Assay Cup Elecsys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou
- Réf. 11706802, Assay Cup Elecsys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
- Réf. 11706799, Assay Tip Elecsys 2010, 30 x 120 embouts de pipette
- Equipement habituel de laboratoire

Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170:

- Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l, tampon système
- Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermostatisation de ProCell et de CleanCell M
- Réf. 03004899, PreClean M, 5 x 600 ml, solution de lavage avant la détection
- Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/ embouts de pipettes, sacs pour déchets
- Réf. 03023150, WasteLiner, sacs pour déchets
- Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur M pour SysClean

Pour les trois appareils:

- Réf. 11298500, SysClean Elecsys, 5 x 100 ml, solution de lavage avant la détection

Disponible uniquement aux Etats-Unis:

Réf. 11776681, FT3 CalCheck Elecsys à trois niveaux de concentration

Mode opératoire*

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.

L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette. 

E170/Elecsys 2010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Eviter la formation de mousse. L'analyseur **gère** le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.

Elecsys 1010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20–25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20–25°C). Eviter la formation de mousse. **Ouvrir** les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les **refermer** et les replacer au réfrigérateur après la série de dosages.

Calibration*

Le test FT3 a été calibré par rapport à la méthode de dialyse à l'équilibre.⁹

Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des 2 solutions FT3 CalSet.

Fréquence de calibration : Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré depuis au maximum 24 heures par l'appareil).

Une nouvelle calibration est recommandée pour :

E170/Elecsys 2010 :

- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après quatre jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

Elecsys 1010 :

- à chaque nouveau coffret
- après trois jours à une température ambiante de 20–25°C
- après trois jours à une température ambiante de 25–32°C

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :

- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérums de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.

Validation de la calibration : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

Contrôle de qualité*

Utiliser PreciControl Universal 1 et 2 Elecsys ou d'autres sérums de contrôle appropriés. Il est recommandé de doser les sérums de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.

Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance.

Expression des résultats*

E170, Elecsys 1010 et 2010 calculent le taux de FT3 libre de chaque échantillon.

Les résultats sont exprimés au choix en pmol/l, pg/ml ou ng/dl.

Facteurs de conversion: $\text{pmol/l} \times 0,651 = \text{pg/ml}$ ($\times 0,0651 = \text{ng/dl}$)
 $\text{pg/ml} \times 1,536 = \text{pmol/l}$

Limites d'utilisation - Interférences10**

La bilirubine (< 370 mg/l ou 37 mg/dl), l'hémolyse (Hb < 2,0 g/dl), la lipémie (< 15 g/l ou 1500 mg/dl), la biotine < 20 ng/ml n'influencent pas le résultat.

Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.¹⁰

L'influence de 26 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée pour 24 d'entre eux.

L'acide acétylsalicylique et le furosémide peuvent, aux doses thérapeutiques, conduire à des taux de T3 libre par excès.

Les autoanticorps présents dans certains sérums peuvent avoir une influence sur le résultat.

Les cas d'interactions immunologiques entre les composants du réactif et les constituants de certains sérums sont rares. Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti-streptavidine et anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces risques sont toutefois minimisés dans le test FT3 Elecsys.

Pour le diagnostic, les résultats du test FT3 Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats des autres examens.

Domaine de mesure

0,400–50,00 pmol/l ou 0,260–32,55 pg/ml (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,400 pmol/l ou < 0,260 pg/ml, et les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 50,0 pmol/l ou > 32,55 pg/ml.

Dilution des échantillons

Les échantillons destinés au dosage de la T3 libre ne peuvent pas être dilués : toute modification de la concentration des protéines de transport par addition de diluant perturberait l'équilibre entre la forme libre de la T3 et la forme liée aux protéines.

Domaine de référence10**

2,8–7,1 pmol/l ou 1,8–4,6 pg/ml : euthyroïdie

Les valeurs correspondent aux 2,5^e et 97,5^e percentiles de résultats obtenus sur le sérum et le plasma de 962 sujets sains.

Les domaines de référence ont été déterminés à partir des résultats d'une étude multicentrique sur les paramètres thyroïdiens (1^{er} trimestre 1998). Les domaines de référence pour les enfants sont disponibles sur demande et figurent dans le dossier Information-produit FT4 Elecsys.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir au besoin ses propres valeurs selon la population examinée.

Performances analytiques10****Précision**

Les résultats suivants ont été obtenus avec des analyseurs Elecsys. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérums humains et des sérums de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards); précision intra-série pour E170, n=21.

Elecsys 2010			Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	s		CV
	pmol/l	pg/ml	pmol/l	pg/ml	%	pmol/l	pg/ml	%
Sérum humain 1	5,11	3,33	0,11	0,07	2,3	0,24	0,16	4,7
Sérum humain 2	10,5	6,84	0,22	0,14	2,1	0,33	0,21	3,1
Sérum humain 3	14,4	9,37	0,33	0,21	2,3	0,39	0,25	2,7
PreciControl U 1	7,64	4,97	0,15	0,10	2,0	0,27	0,18	3,6
PreciControl U 2	20,8	13,5	0,52	0,34	2,5	0,68	0,44	3,3

Elecsys 1010			Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	s		CV
	pmol/l	pg/ml	pmol/l	pg/ml	%	pmol/l	pg/ml	%
Sérum humain 1	2,19	1,43	0,21	0,14	9,5	0,25	0,16	11,2
Sérum humain 2	4,42	2,88	0,21	0,14	4,8	0,28	0,18	6,3
Sérum humain 3	8,99	5,85	0,37	0,24	4,1	0,46	0,30	5,1
PreciControl U 1	5,47	3,56	0,25	0,17	4,7	0,33	0,22	6,1
PreciControl U 2	19,9	13,0	0,73	0,48	3,7	0,75	0,49	3,8

E170			Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	$\bar{x}$		CV
	pmol/l	pg/ml	pmol/l	pg/ml	%	pmol/l	pg/ml	%
Sérum humain 1	4,42	2,88	0,12	0,08	2,7	4,41	2,87	0,40
Sérum humain 2	7,98	5,20	0,25	0,16	3,1	8,67	5,65	0,49
Sérum humain 3	21,7	14,2	0,41	0,27	1,9	22,3	14,5	0,79
PreciControl U 1	6,43	4,18	0,21	0,14	3,3	7,15	4,65	0,36
PreciControl U 2	24,3	15,8	0,69	0,45	2,8	25,6	16,6	0,99

Sensibilité (limite de détection analytique)

0,400 pmol/l ou 0,260 pg/ml

La limite de détection correspond au taux le plus faible de T3 libre mesurable qui puisse être différencié de zéro. Elle représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2s (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, précision intra-série n = 21).

Spécificité analytique

L'anticorps anti-T3 du coffret présente les réactions croisées suivantes :

D-T3 100%; L-T4 < 0,16%; D-T4 < 0,16%; L-rT3 < 0,04%; L-T2 < 1,0%; acide tri 3,3',5-iodothyroacétique 106% ; acide tétra-3,3',5,5-iodothyro-acétique < 0,01%.

Comparaison de méthodes

Une comparaison entre le test FT3 Elecsys (y) et le test FT3 Enzymun-Test (x) sur des échantillons de sérum de patients hospitalisés a permis d'établir les corrélations suivantes :

Nombre des échantillons analysés : 298

Passing/Bablok¹¹⁻¹³ Régression linéaire

y = -1,45 + 1,06x y = -0,22 + 0,90x

r = 0,94 r = 0,94

s(md68) = 0,325 Sy.x = 0,761

Les concentrations des échantillons étaient situées entre env. 2,2 et 39 pmol/l ou env. 1,4 et 23 pg/ml.

Bibliographie

- 1 Wheeler MH, Lazarus JH. Diseases of the Thyroid. Londres, Glasgow, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: Chapman and Hall Medical, 1994:107–115.
- 2 Pfannenstiel P, Saller B. Schilddrüsenkrankheiten Diagnose und Therapie. Berliner Medizinische Verlagsgesellschaft GmbH 1995;2:30–32, 60–62.
- 3 Fisher DA. Physiological variations in thyroid hormones physiological and pathophysiological considerations. Clinical Chemistry 1996;42: 135–139.
- 4 Klee GG. Clinical usage recommendations and analytic performance goals for total and free triiodothyronine measurements. Clinical Chemistry 1996;42:155–159.
- 5 Surks MI, Chopra IJ, Mariash CN, Nicoloff JT, Solomon DH. American Thyroid Association guidelines for use of laboratory tests in thyroid disorders. JAMA 1990;263:1529–1532.
- 6 Becker DV, Bigos ST, Gaitan E, Morris JC, Rallison ML, Spencer CA, et al. Optimal use of blood tests for assessment of thyroid function (letter). JAMA 1993;269:273.
- 7 Wild D. The Immunoassay Handbook. Stockton Press 1994; 338.
- 8 Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3^e éd. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:612.
- 9 Methode: Corning Nichols Institute, CA., USA.
- 10 Documentation de Roche.
- 11 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
- 12 Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:431–445.
- 13 Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010, au dossier Information-produit FT3 et aux notices d'utilisation FT3 CalSet et PreciControl Universal.

= Modifications importantes. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.

© 2001 Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

2001-04

